

## **ZÁRÓ JELENTÉS**

**a “Humán dopamin D4-es receptor promoter polimorfizmusainak molekuláris biológiája és pszichogenetikai vonatkozásai” című OTKA Posztdoktori Kutatási Szerződés 2004 október 01 és 2007 szeptember 30 közötti időszakáról.**

**Témavezető: Dr. Csapó Zsolt**

**Vezető kutató: Dr. Sasvári Mária, Dr.Sci.**

**OTKA Ny. szám: D 048430**

**2008 február 24 .**

## BEVEZETÉS

Az elmúlt évtizedben fokozatosan nőtt azoknak a pszichogenetikai vizsgálatoknak a száma, amelyekben az emberi személyiség jegyek (újdonság keresés, jutalom függőség, stb.) genetikai hátterét, vagy különböző pszichiátriai betegségek ( skizofrénia, drogfüggőség, gyermekkori hiperaktivitás) örökölhetőségét kutatták. Ezekben a vizsgálatokban előkelő helyen szerepel a dopaminerg agypályákra jellemző gének, így a dopamin receptor gének működésének tisztázása, mivel a dopaminerg pályák olyan alapvető agyi funkciók kialakításában vesznek részt, mint a mozgáskoordináció, az emocionális funkciók, az agyi jutalom központ, motiváció, a kognitív folyamatok.

A D4 dopamin receptor génje a 11. kromoszóma telomér régiójában található, és igen sok polimorfizmust hordoz. A promóter régió számos polimorfizmusáról mutatták ki genetikai asszociációs vizsgálatokkal, hogy hatással vannak bizonyos személyiség vonások kialakulására vagy pszichiátriai kórképek megjelenésére.

Az asszociációs vizsgálatok mellett azonban alig jelent meg olyan közlemény, amely ezeknek a polimorfizmusoknak a molekuláris, a génexpresszióra gyakorolt hatásával foglalkozott volna.

A pályázat célja volt a DRD4 gén 5'szabályzó régiójában a transzkripciót befolyásoló, funkcionális illetve a neutrális polimorfizmusok elkülönítése, valamint a lehetséges transzkripciós faktor kötőhelyek, enhancer és silencer elemek felderítése.

## **A PÁLYÁZAT EREDMÉNYEI**

### **A DRD4 gén expressziójának mérése és a tranziens transzfekciós módszerek optimalizálása különböző sejtvonalakra.**

Laboratóriumunkban öt humán sejtvonal rutinszerű tenyésztését indítottuk be, úgymint: SKN-F1 neuroblasztóma, HeLa cervikális karcinóma, CCF-STTG1 asztrocitóma, Y79 retinoblasztóma és IMR-32 neuroblasztóma sejtek. RT-PCR –rel kimutattuk a neurális eredetű sejtekben a DRD4 gén expresszióját, ami előfeltétele annak, hogy e sejteket bevonjuk a DRD4 promóter vizsgálatába.

A tranziens transzfekciós kísérletekben az egyes sejtekhez kiválasztottuk a legmegfelelőbb transzfekciós reagenseket, optimalizáltuk a tranziens transzfekciós módszereket. SKN-F1 sejtvonalon a Lipofectamine 2000 reagenst, illetve a kalcium-foszfát módszert alkalmaztuk. HeLa sejtek esetén a Lipofectamine 2000-t használtuk. Az Y79 transzfekciójára a Lipofectamine+Plus reagens bizonyult a leghatékonyabbnak, csakúgy, mint az IMR-32 sejtek esetében. CCF-STTG1 sejteket a Qiagen Effectene reagenssel sikerült transzfektálni.

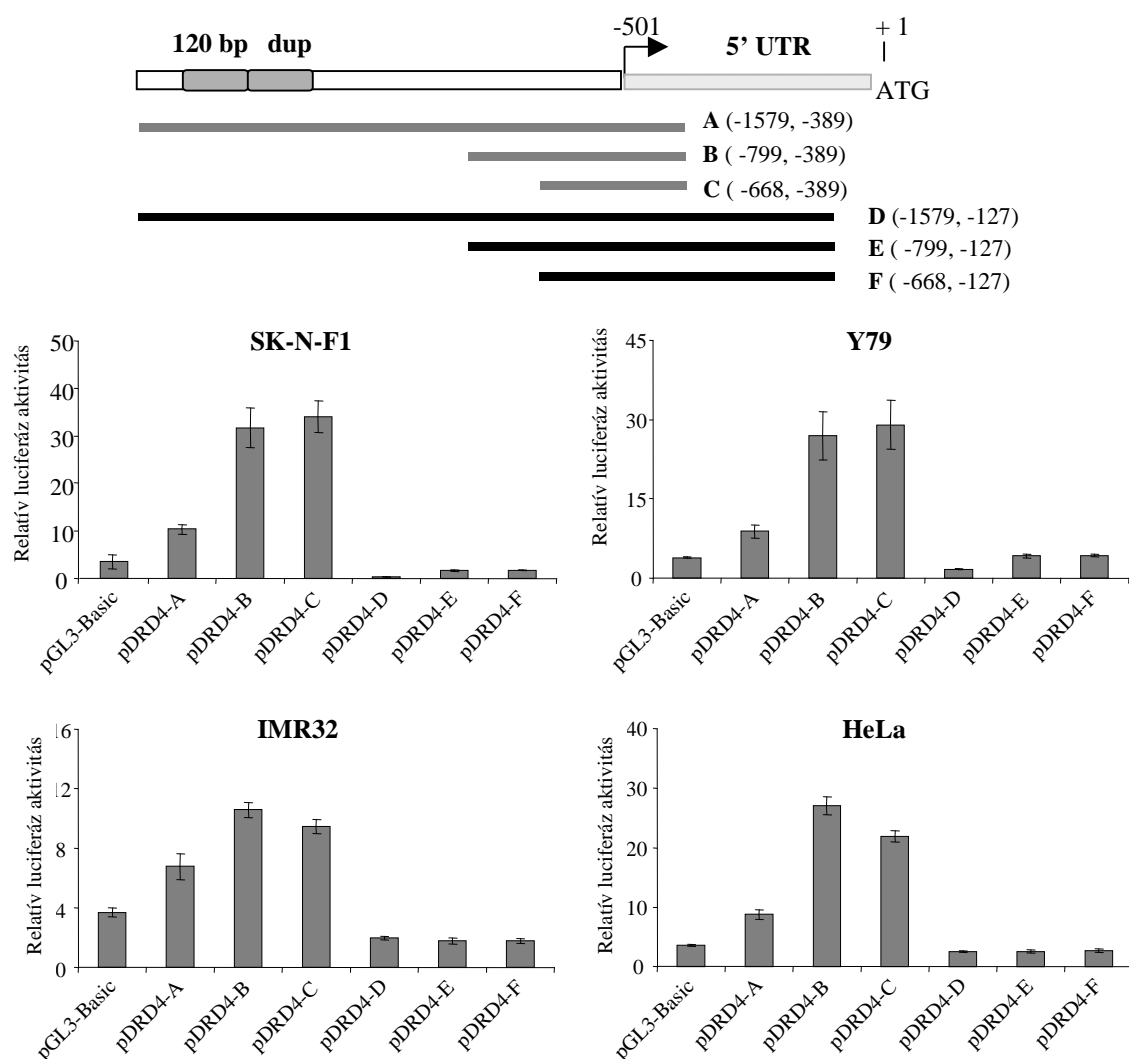
A DRD4 promóter haplotípusok aktivitását luciferáz riportergénes plazmidokba klónozva mértük (pGL3-Basic). A  $\beta$ -galaktozidáz enzimet kódoló pCMV- $\beta$ -Gal plazmidot használtuk transzfekciós belső kontrollnak.

Fontosnak bizonyult a tranziens transzfekcióknál használt plazmid preparátumok minősége. Több plazmid izoláló kitet kipróbáltunk, ezek közül a Qiagen Maxiprep Kit bizonyult a legmegbízhatóbbnak. Kísérleteinkben csak azokat az eredményeket fogadtuk el, amelyeket újra izolált plazmidokkal is sikerült megismételni.

Beállítottuk a DRD4 és a DRD2 gén expressziójának kvantitatív realtime PCR –rel történő detektálását (Applied Biosystems 7300 Realtime-PCR, ABI Taqman Kit).

## A DRD4 gén promóter régiójának vizsgálata

Elkészítettük a DRD4 promóter 5' deléciós sorozatát. Genomiális DNS-t templátként használva a DRD4 promóter régió 1444 bp hosszú szakaszát, a -1571 bp és -127 bp közötti szekvenciát (+1 a translációs start hely, -501 a transzkripció start hely) PCR reakcióban felamplifikáltuk, és pGL3-Basic vektorba klónoztuk a luc+ riporter gén elé. A kapott plazmidot (pDRD4-D) használtuk templátként a többi, rövidebb promóter szakaszt tartalmazó konstrukció elkészítéséhez. Az A –tól F-ig jelölt konstrukciókat három neurális eredetű sejtvonalba, illetve a kontrollként használt nem neurális HeLa sejtvonalba transzfektáltuk.



### A DRD4 gén 5' szabályozó régió vizsgálata tranziens expresszióval

A szabályozó régió A-F betűvel jelölt szakaszait luciferáz riporter gén elé építettük és neurális (IMR-32, Y79, SKN-F1), ill. nem neurális eredetű (HeLa) sejtekbe transzfektáltuk. Az aktivitás értékek három független kísérletből származnak. pGL3-Basic: DRD4 szekvenciát nem tartalmazó üres vektor. -501 a transzkripció start helyet jelöli. A sávozott szakasz az 5' nem transzlálódó régió.

Az ábrát elemezve látható, hogy a core promóter, azaz a pDRD4-C (-668, -389) konstrukció bizonyult a legaktívabbnak a neurális sejtekben, de a 5' irányban 131 bázispárral hosszabb pDRD4-B (-799, -389) plazmid aktivitása sem tér el szignifikánsan a pDRD4-C -től.

Korábbi eredmények (Kamakura et al. Biochem Biophys Res Commun 1997, 235(2): 321-6) arra utaltak, hogy a promóter -770nt /-679nt szakaszán egy negatív modulátor régió található. A mi eredményeink azonban – amelyek ugyanazon sejtvonalak felhasználásával születtek, amiket az idézett csoport is használt - azt valószínűsítik, hogy ha van ilyen szakasz, akkor az valószínűleg 5' irányban feljebb található a -1571nt és a -799nt között. Hiszen a B és C fragment aktivitása között nem találtunk jelentős különbséget, viszont a hosszabb A fragmentet (-1571nt, -389nt) hordozó plazmidok aktivitása csak 30-60% -a lett a B fragment aktivitásának sejtvonaltól függően.

Azok a konstrukciók (pDRD4-D, pDRD4-E, pDRD4-F) amelyek a promóter 5' nem transzlálódó régiójának nagy részét (-501nt/-127nt) is tartalmazták, közel egy nagyságrenddel kisebb aktivitást mutattak. Az 5'UTR ilyen drámai hatására két lehetséges okot találtunk. Vagy egy represszor fehérje kötődhet ehhez a feltételezett szabályozó régióhoz, Vagy pedig az 5'UTR -389nt/-127nt szakaszán megtalálható négy darab ATG transzlációs iniciációs kodon jelenléte lehet zavaró. Ezek közül három ATG nincs frame-ben a luciferáz enzimet kódoló exon ATG-jével. Ennek következtében nagy valószínűséggel ezekről (a luciferáz gén ATG-jétől 5' irányban található) ATG kodonokról (mRNS-en AUG) indul meg a transzláció, működésképtelen fehérjéket eredményezve. Eredményeinket 2006-ban közzétettük le.

**(Kereszturi E, BMC Mol Biol. 2006 May 24;7:18)**

Ugyanebben a cikkben közzétettük le a -521 CT polimorfizmussal kapcsolatos tapasztalatainkat. Okuyama és munkatársai (Okuyama, Biochem Biophys Res Commun. 1999 May 10;258(2):292-5) Y79 sejtben vizsgálták az -521 CT polimorfizmus hatását a promóter aktivitására. Úgy találták, hogy a T allél-t hordozó minimál promóter 40% -kal alacsonyabb aktivitású, mint a C allélt hordozó. Az irodalomban igen gyakran hivatkoztak erre az eredményre, ezért munkacsoportunk is vizsgálta ezt a polimorfizmust.

Ha a T vagy C allélt hordozó pDRD4-A konstrukciókat hasonlítottunk össze, akkor Y79 sejtekben 20%-os különbség adódott a C allél javára, de statisztikailag a különbség nem volt szignifikáns. SKN-F1 és IMR 32 sejtvonalakban sem találtunk különbséget. Ugyancsak nem sikerült szignifikáns különbséget kimutatni a két allél között, amikor minimál promóttert

hordozó konstrukciókat (pDRD4-C) transzfektáltunk az említett sejtvonalakba. Így eredményeink nem támasztják alá az –521CT SNP génexpressziót befolyásoló szerepét.

Másik megjelent közleményünkben a „120 bp dup” hosszúság polimorfizmust vizsgáltuk. (120 bp VNTR, variable number tandem repeat) **Kereszturi E, Am J Med Genet B Neuropsychiatr Genet. 2007 Mar 5;144(2):231-6;**

Az asszociációs kísérletekből kiderült, hogy a 120 bp-os szakaszt egyszeresen hordozó DRD4 promóter haplotípus (1x120bp) a gyermekkori figyelemhiányos hiperaktivitás genetikai rizikófaktor. Az erre a haplotípusra homozigóta gyermekeknél 2,5-szeres az említett viselkedési zavar előfordulása.

A génexpresszióra gyakorolt hatást vizsgálva egy, két, három illetve négy 120 bp ismétlődést hordozó promóter haplotípusokat hasonlítottunk össze (pDRD4-A konstrukciók). Az aktivitásokat SKN-F1, Y79 és HeLa sejtvonalakon megmérve azt találtuk, hogy minél több 120 bp-os szakaszt hordoz a plazmid konstrukció, annál kisebb annak aktivitása. Ezért valószínű, hogy gátló faktorok kötődnek a 120 bp szakaszhoz. Arányaiban legnagyobb hatást a második 120 bp-os repeat megjelenése okozta, a harmadik illetve negyedik repeat jelenléte, egyre kevésbé csökkentette a promóter aktivitását.

## **TUDOMÁNYOS KÖZLEMÉNYBEN NEM KÖZÖLT EREDMÉNYEK**

### **120 bp –os polimorfizmus további vizsgálata**

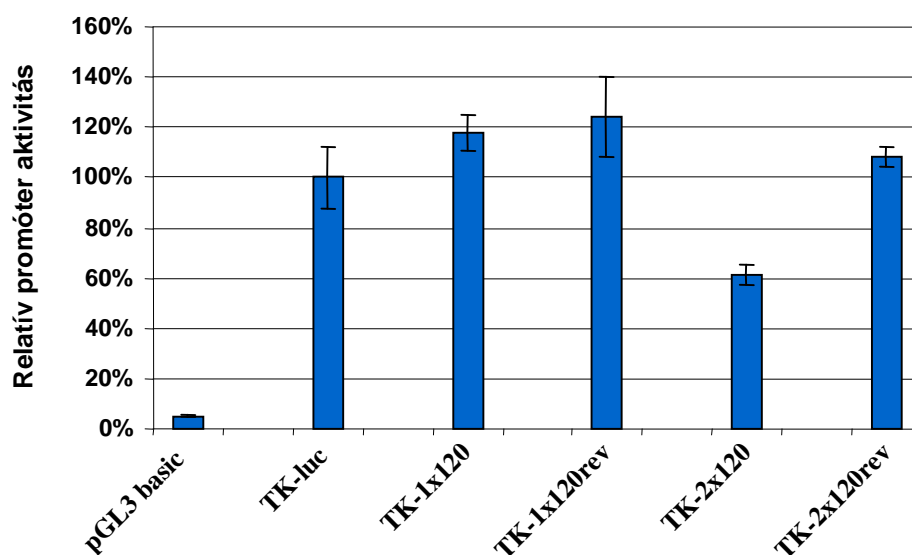
A 120 bp ismétlődés további vizsgálatakor megnéztük vajon a 120 bpVNTR a DRD4 promóter mellett más promóterek aktivitását is képes-e negatív irányban befolyásolni.

Ezért újabb konstrukciókat készítettünk. A 120 bp ismétlődést tartalmazó szekvenciát (a -1571 nt és -1195 nt közötti szakaszt) beklónoztuk a pTK-luc plazmidba, a timidin kináz promóter elé 5' irányban. Ugyanígy a pGL3-Control plazmidba is beillesztettük a szekvenciát, az SV 40 promótertől 5' irányban. Más konstrukciókban ezt az inzert szekvenciát fordított (reverz) irányban építettük be a promóterek elé.

A tranziens transzfekciós kísérletekben a 1x120 bp-t hordozó inzert nem változtatta meg jelentősen a TK promóter aktivitását, azonban a 2x120 bp –os változat 40 %-kal csökkentette azt. Viszont az inzert fordított irányban történő beillesztése a TK promóter elé nem okozott szignifikáns változást. Az SV40 promóter esetében is azt tapasztaltuk, hogy a 2x120bp-os konstrukció aktivitása mintegy 30%-kal alacsonyabb, mint a 1x120 bp-os konstrukció aktivitása.

Ez megerősíti a 120 bp VNTR-nek a DRD4 promóternél tapasztalt hatását.

### 120bp VNTR és a TK promóter interakciója

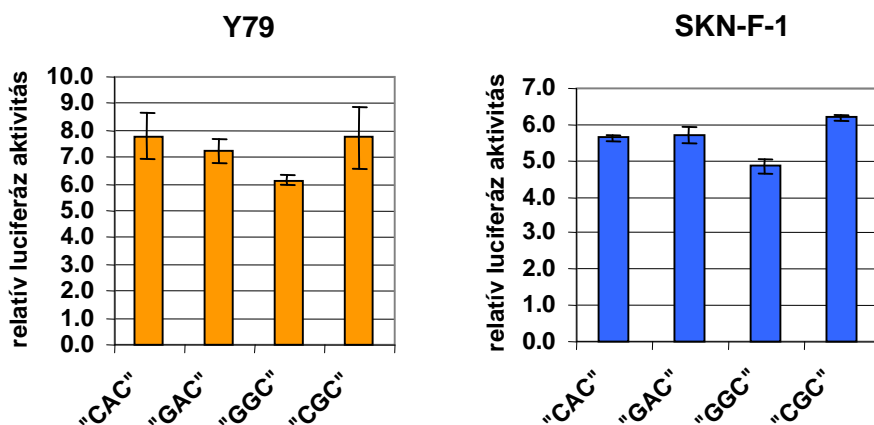


A DRD4 promóter -1571nt és -1195nt közötti szakaszát (mely a 120 bp VNTR –t tartalmazza) forward és reverz irányban a Herpes Simplex vírus Timidin-kináz promótere elé klónoztuk pGL3 alapú vektorban. SKN-F1 sejtekben megmértük a konstrukciók aktivitását.

### –616 C/G és –615 A/G polimorfizmusok

Megvizsgáltuk a core promóter régió másik két polimorfizmusát is (–616 C/G és –615 A/G), mivel több pszichogenetikai asszociációs vizsgálat arra mutat, hogy szerepük lehet bizonyos pszichiátriai kórképek (ADHD, skizofrénia, drogfüggőség) genetikai meghatározottságában. A –616 C/G és –615 A/G SNP-k által meghatározott négy haplotípus aktivitását összehasonlítva (-521 C háttér mellett) azt állapíthatjuk meg, hogy a “GGC” haplotípus (–616 G, –615 G, -521 C) kisebb promóter aktivitást mutat, mint a másik három

változat. A TESS programmal transzkripciós faktor konszenzus szekvenciákat keresve a négy variánsban, kizárólag a “GGC” haplotípusban jelenik meg a AP-2 faktor kötőhelye, míg a “CAC” haplotípus esetén a NRSF (Neuron-restrictive silencer factor) kötőhelyét valószínűsíti a program a –616 / -615 helyre. (Csapó Z, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology; June 18 – 23 Kyoto, Japan, 2006, poszter)

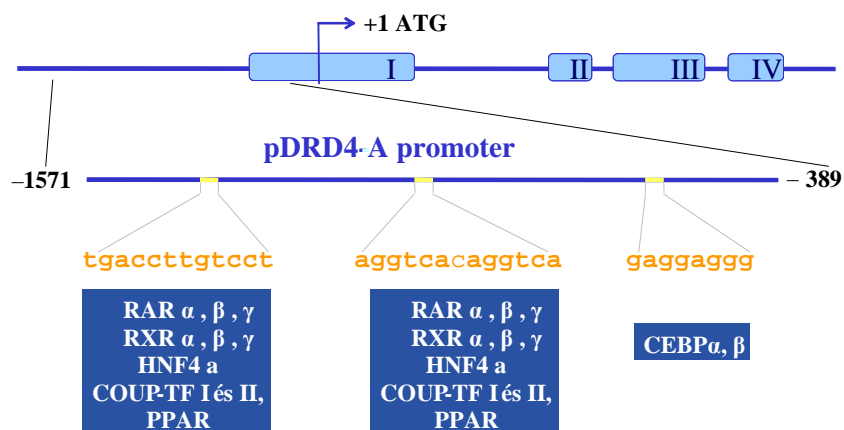


Különböző haplotípust hordozó pDRD4-C konstrukciók összehasonlítása két sejttípusban. A „CAC” rövidítés a -616C, -615A, -521C polimorfizmusok együttesét jelenti a –668 nt és a –389 nt közötti promóter szakaszon. A pGL3-Basic üresvektor aktivitását tekintettük egységnyi aktivitásnak.

### RAR/RXR heterodimer kötőhely vizsgálata

A TESS és Genomatix MatInspector transzkripciós faktor kötőhely kereső programokkal többféle faktor kötőhelyét megtaláltuk a minimál promótertől 5' irányban. Ezek közül kiválasztottuk a RAR/RXR heterodimer transzkripciós faktor kötőhelyét (RARE, aggtca c aggtca). Ezen faktor ligandja a reténsav, amely kulcselem a központi idegrendszer kifejlődésében és az idegsejtek differenciációjában. Kimutatták hatását számos, a dopaminerg neuronokra jellemző gén expressziójának szabályozásában is (DRD2, DRD1, DARPP-32).

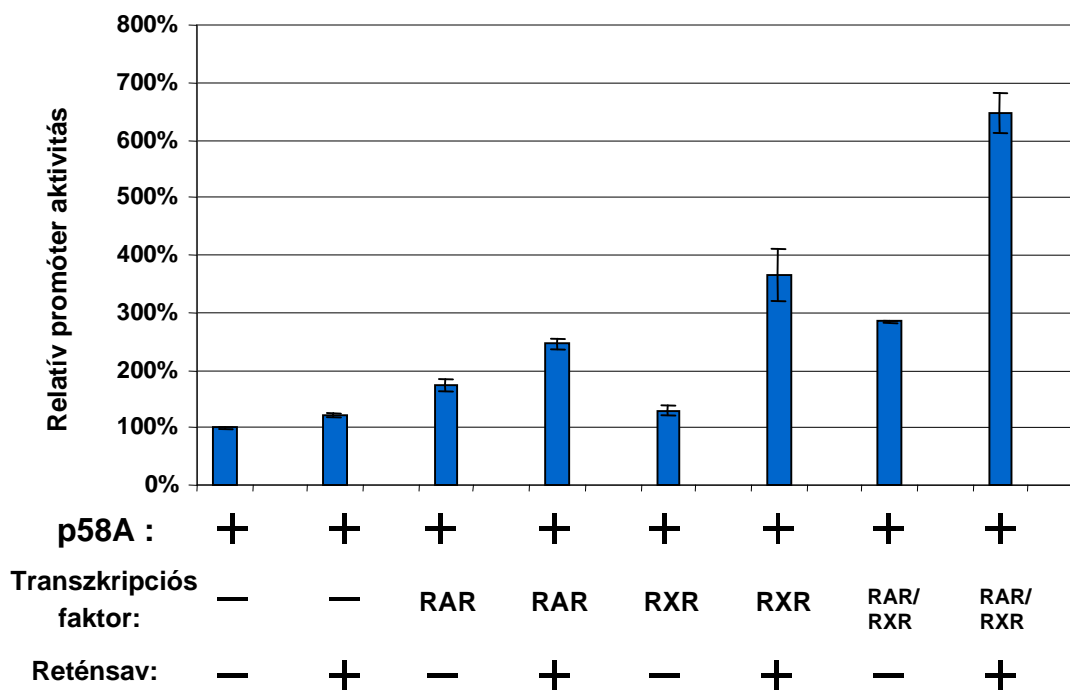




**RAR/RXR transzkripció faktor kötőhelyek a DRD4 promóterben.**

Kotranszfektáltuk a DRD4 promóter -1571/-389 szakaszát hordozó luciferáz riporter plazmidot, és a RAR és RXR faktorokat expresszáló plazmidokat, majd pedig reténsav kezelést alkalmaztunk. A kezelés hatására a promóter aktivitás több, mint hatszorosára nőtt.

### RAR/RXR hatása a DRD4 promóterre



**P58A:** a DRD4 promóter -1571nt és -389nt közötti szakaszát hordozó pGL3 plazmid. Reténsav: 1  $\mu$ M all-transz-reténsav + 1  $\mu$ M 9-cisz-reténsav

Az ugyanehhez a RARE helyhez kötődő HNF4 faktor 8 - 18 –szorosára emelte a DRD4 promóter aktivitását. (Igaz, a HNF4 expresszióját idegsejtekben eddig még nem mutattak ki.) Egyéb, a promóterben feltételezett kötőhellyel rendelkező transzkripciós faktorokat is kipróbáltunk (PPAR $\alpha$ , COUP-TF I, COUP-TF II, SP1, C/EBP $\alpha$ ). Ezek nem, vagy csak minimálisan (2x) emelték a promóter aktivitást. Az eredményeket poszter formájában bemutattuk a 2006 évi IUBMB konferencián. **(Kereszturi E, 20th IUBMB International Congress of Biochemistry and Molecular Biology; June 18 – 23 Kyoto, Japan, 2006, poszter)**

A kísérleteket megismételtük mutáns RARE helyet tartalmazó promóter konstrukcióval (acgtac c acgtac). Meglepő módon a mutáns promóter ugyanúgy aktiválható maradt, mint a nem mutáns, ami arra enged következtetni, hogy a RAR/RXR redundáns módon, más helyre is be tudott kötődni az adott promóter szekvencián belül (-1571 nt / -389 nt). Vagy pedig közvetett módon, más transzkripciós faktorok aktiválásán keresztül hatott a DRD4 promóter aktivitására.

### **Kvantitatív realtime PCR vizsgálatok**

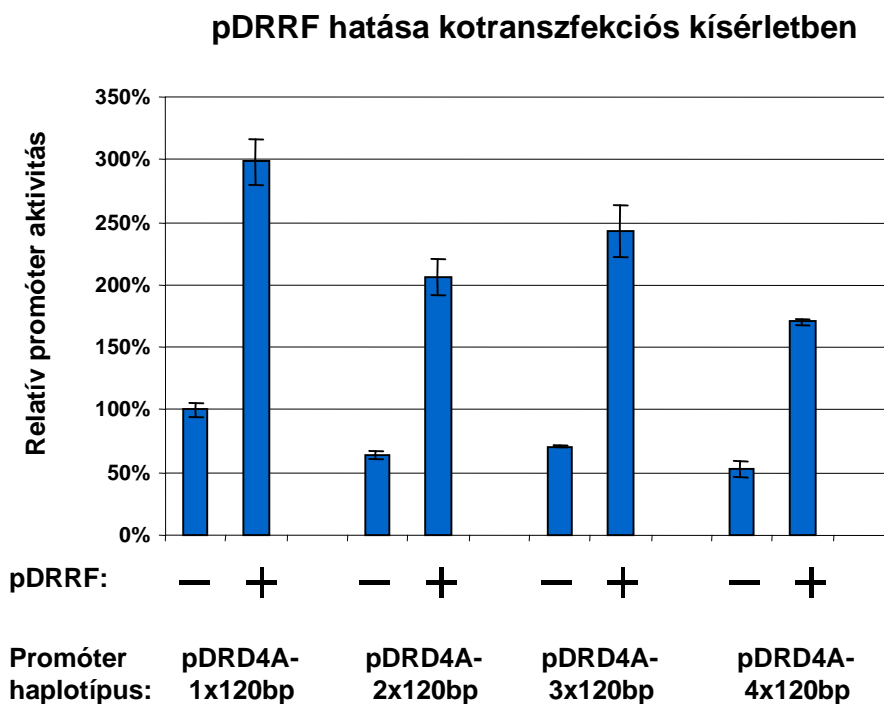
Megvizsgáltuk, hogy SKN-F1 neuroblasztoma sejtek reténsavval (ATRA, 9-cis-RA) történő inkubációja befolyásolja-e az DRD2 és DRD4 gének expresszióját. Ez mutatná a RAR/RXR szerepét az említett gének regulációjában. A sejteket 0, 1, 2, 4, 8, 16 vagy 40 óra hosszan inkubáltuk ATRA és 9-cis RA elegyével (1  $\mu$ M -1  $\mu$ M végkoncentrációban). A kezelt sejtekből mRNS-t preparáltunk, majd az erről készült cDNS-t ABI TaqMan Kit alkalmazásával kvantitatív realtime PCR módszerrel detektáltuk.

A DRD2 és DRD4 mRNS szintek lényegesen nem változtak a kezelés hatására, hosszabb kezelés hatására kis mértékű csökkenést tapasztaltunk.

Y79 retinoblasztoma sejten is elvégeztük a kísérletet. A reténsav a DRD4 mRNS szintjét nem emelte, a DRD2 mRNS szint 40 órás kezelés alatt kis mértékben, mintegy kétszeresére nőtt. A kapott eredmények azt sugallják, hogy az általunk használt sejtvonalak a sejt-differenciáció késői szakaszában vannak, s így az idegszöveti differenciálódásban fontos szerepet játszó reténsav már nem gyakorol lényeges hatást az általunk vizsgált gének expressziójára.

## A Dopamin receptor reguláló faktor hatása a DRD4 promóterre

Mouradian és munkatársai által leírt Dopamin receptor reguláló faktor (DRRF) képes kötődni a DRD1a, DRD2 és a DRD3 promóterek GC-box és GT-box szakaszaihoz, és képes kiszorítani az Sp1, Sp3 faktorokat. Mivel a DRD4 promóterben több helyen, így a 120bp duplikációban is Sp1 kötőhelyeket detektáltunk a megfelelő kereső programokkal, ezért kotranszfekcióban néztük a DRRF hatását a DRD4 promóter aktivitására. A DRRF expressziós plazmid mellett ( amit M. Mouradian bocsátott a rendelkezésünkre), a pDRD4-A plazmidot használtuk, ami a promóter 1182 bp -os szakaszát (-1571 nt / -389 nt) tartalmazza.



**A DRRF faktor hatása:** Eltérő számú 120 bp-os ismétlődést hordozó DRD4 promóter haplotípusokat és a pDRRF plazmidot kotranszfektáltuk SKN-F1 sejtekbe.

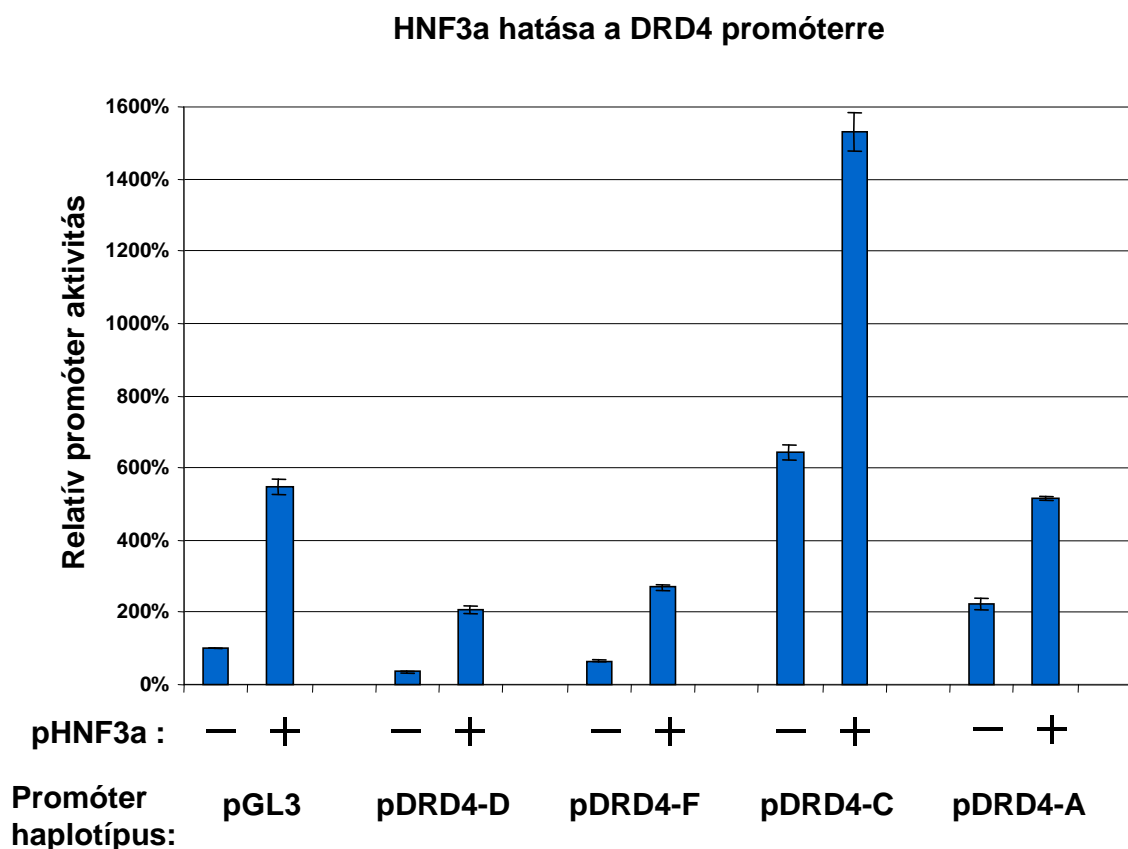
A kotranszfekciós kísérletekből kiderült, hogy a DRRF faktor a pDRD4-A konstrukciók aktivitását több mint háromszorosára növelte, függetlenül attól, hogy a promóterben 1x, 2x, 3x, vagy 4x-es ismétlődésben volt jelen a 120 bp –os szakasz. Mivel a promóterben több helyen van Sp1 kötőhely, ezért valószínű, hogy az újabb 120 bp-os szakaszokban megjelent újabb kötőhelyek már nem tudták segíteni a DRRF hatását.

A DRRF az üres vektorra (pGL3-Basic) nem volt hatással, a minimál promóterre azonban igen. A pDRD4-B aktivitását 2,5-szeresre, a pDRD4-C aktivitását 1,9-szeresre emelte.

Azonban ha a DRRF faktort overexpresszáltuk az SKN-F1, IMR-32 illetve Y79 sejtekben, nem tapasztaltunk szignifikáns növekedést a DRD4 gén expressziójában kvantitatív realtime PCR-rel mérve. Így a DRRF faktor in vivo hatása a DRD4 génre továbbra is kérdéses.

### Vizsgálatok az HNF3a faktorral

A DRD4 promóter 5'UTR részén egy HNF3a faktor kötőhely található (-163/-150 pozíció). HNF3a expressziós plazmiddal kotranszfekciós kísérletet végeztünk SKN-F1 sejtvonalban.



A DRD4 promóter különböző hosszúságú szakaszát hordozó pGL3 alapú plazmidokat és az HNF3a faktort expresszáló pHNF3a plazmidot kotranszfektáltuk SKN-F1 sejtekbe, majd megmértük a promóter konstrukciók aktivitását.

Annak ellenére, hogy a HNF3 kötőhelyet tartalmazó promóter variánsok, az F fragment és a D fragment aktivitása jelentősen nőtt (négyeszeresére ill. hatszorosára) a HNF3a kezelésre, mégsem állítható, hogy ez a faktor közvetlenül kötődne a DRD4 promóterhez. Ugyanis a kötőhelyet nem tartalmazó promóter változatok aktivitását is 2-2,5 –szeresére emelte a kezelés (pDRD4-C), sőt a DRD4 promótert nem tartalmazó üres vektor aktivitása is 5-szörösére emelkedett (pGL3). Tehát a sejtekben overexpresszált transzkripció faktor nem specifikusan a DRD4 promótert aktiválta, hanem a pGL3 vektor egyéb szekvenciáihoz kötődhetett, vagy a sejt génexpressziós folyamatait zavarta meg.

### **Hipoxiás állapot hatása a DRD4 gén expressziójára**

A központi idegrendszer kifejlődése, a neuronális differenciálódás során a sejtek hipoxiás környezetben fejlődnek. Egyes elképzelések szerint, a dopaminerg differenciálódást befolyásoló tényező lehet a hipoxiás környezet. (Neuronális őssejtek fejlődését dopaminerg irányba tolja el a hipoxiás kezelés.) A hipoxiára adott válasz központi eleme a HIF1 transzkripció faktor aktiválódása.

A DRD4 promóterben több lehetséges HIF1 kötőhely (core nukleotidok: CGTG) van, például a -197nt/-190nt szekvencia („caCGTGcc”).

SKN-F1 sejteket hipoxiás kezelésnek alávetve azt tapasztaltuk, hogy a 8. órától kezdve fokozatosan nőtt a DRD4 mRNS szintje a sejtekben. A DRD4 expresszió növekedése a 48 órás kezelésre érte el a maximumát, ekkor az mRNS szint a hétszerese volt a normoxiás kontrollénak. Más sejtvonalakon (Y79, IMR32) ugyanezt tapasztaltuk.

Mivel a HIF1a által regulált gének expressziója már egy-két óra alatt megemelkedik (pl. VEGF), ellenben a DRD4 csak 48 óra alatt éri el az expressziós maximumot, ezért a DRD4 expressziójának megemelkedése inkább a hipoxiás környezethez való hosszabb távú adaptáció része lehet, amely nem feltétlenül a HIF1 révén érvényesül.

Megnéztük továbbá a DRRF faktor és a hipoxiás környezet interakcióját. Az SKN-F1 sejtek viszonylag jól tűrték a DRRF overexpressziót, majd az overexpressziót közvetlenül követő 24 órás hipoxiás kezelést, de a szinergikus hatást nem láttunk, azaz a DRRF kezelés nem modulálta a hipoxia kezelés hatását.

## ÖSSZEFOGLALÁS

A pályázat legfontosabb eredményei közé a következők tartoznak:

A DRD4 promóterben található –521 CT polimorfizmusról megállapítottuk, hogy - más kutatók korábbi eredményével ellentétben - érdemben nem befolyásolja a promóter aktivitását.

A 120 bp-os ismétlődéses polimorfizmusról (120 bp VNTR) kimutattuk, hogy minél többször fordul elő a 120 bp szakasz a promóterben, annál kisebb a promóter aktivitása. A 120 bp VNTR tehát egyértelműen represszor elemként viselkedik.

Tranziens transzfekciós vizsgálataink egy negatív moduláló elem jelenlétére utalnak a –1571 nt és a –799 nt szakaszon. Valószínű, hogy ez az elem a 120 bp VNTR.

A RAR/RXR heterodimer jelentős mértékben hat a promóter aktivitására tranziens transzfekciós kísérletben. Ez felveti a reténsav szerepét a DRD4 gén aktiválásában a dopaminerg idegsejtek differenciációja során.

A DRRF faktor kotranszfekciós kísérletben háromszorosára növelte a promóter aktivitását. Feltehetően a 120 bp VNTR –ben található Sp1 kötőhelyek is szerepet játszanak a DRRF hatásmechanizmusában.

A hipoxiás környezet képes fokozni a DRD4 gén expresszióját neuronális sejtvonalakon.

Eredményeink segíthetik megérteni az egyének közötti személyiségbeli eltérések genetikai alapjait, illetve bizonyos pszichiátriai kórképek genetikai hátterének feltárását.

Hosszabb távon a dopaminerg agyi pályákat megcélzó gyógyszer hatóanyag kutatások hasznosíthatják a pályázat eredményeit.